

## 論文

早生温州ミカンの花粉退化に関する  
細胞、組織ならびに生理学的研究Cytological, histological and physiological studies  
on the pollen degeneration of Wase Satuma orange  
(*Citrus Unshiu* MARC.)

平田 尚美\*・林 真二\*\* (鳥取大学農学部)

## I 緒 言

わが国で栽培されているかんきつ類のうちには、日向夏や夏橙のように健全な花粉を十分に形成する種類もあれば、早生温州や普通温州ミカンのごとく発育中に退化がおこり、花粉がほとんど形成されないものもある。このように同一の気象条件下でも、種類によって花粉が形成されたりあるいは退化したりするのはなぜか、その原因を解明する目的でねん性の早生温州ミカン(宮川系)とねん性の日向夏を用い、花粉の発育に伴う組織学的変化および生理学的変化を追究し、早生温州ミカンにおける花粉退化の機構について若干考察を行なったので報告する。

## II 材料および方法

1963年から3年間、大阪府農林技術センターかんきつ母樹園栽植の早生温州ミカン(宮川系)および同樹令の日向夏を用いて、実験を行なった。すなわち4月10日より開花まで1ないし2日間隔に花芽を採取し、やくの重量と花粉粒の大きさ、酢酸カーミンとヨードヨードカリ液で、花粉内容の充実度合やでん粉の蓄積の様相を調査し、さらにピロニン・メチルグリーンで核酸の状態も観察した。同時にやくのバラフィン切片を作り、花粉粒の発育とやく壁組織、とくにタペト細胞の発達との関係を追究した。

やくの呼吸量はワールブルグ検圧計を用いて25℃におけるO<sub>2</sub>およびCO<sub>2</sub>を測定し、その結果より呼吸率(RQ)を算出した。

やく中の糖およびでん粉含量の測定は、100~200mgの新鮮なやくのアルコール抽出液について、Somogyi-Nelson法と薄層クロマト法(TLC)で行ない、花粉四分子期より

開花まで毎日測定した。

アミラーゼの活性は100mgの新鮮なやくの抽出液を1%可溶性でん粉に加え、25℃で2時間処理した後におけるしょ糖の生成量から推定し、インベルターゼの活性は1%ショ糖液を用い、25℃、2時間後における還元糖の生成量で調査した。フォスフォリラーゼの活性はやく抽出液をグルコース-1-りん酸に加え、生ずる遊離の無機りん酸をDeniges法により測定して求めた。

アミノ酸の測定は花粉母細胞の時期より開花まで行なった。すなわち、新鮮なやく(100~200mg)のアルコール抽出液をアンバーライト(IR-120)のカラムを通し、アミノ酸を吸着させたのち、アンモニアで抽出し、その抽出液を減圧濃縮して薄層クロマト法で二次元展開を行ない、アミノ酸を分離同定した。

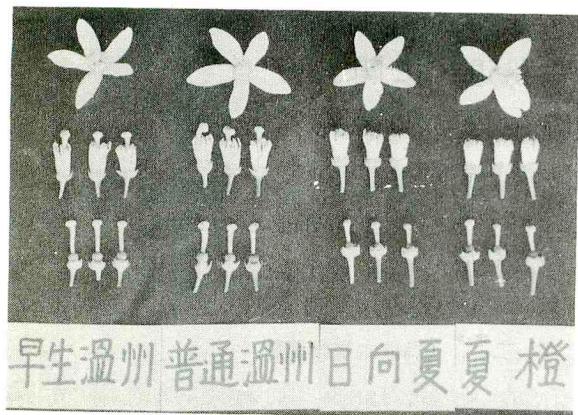
べつに、日向夏と早生温州ミカンのやく中で差異がみられた糖およびアミノ酸を、早生温州ミカンの花粉四分子期と液胞期に二回、幼花に直接処理して、開花時に花粉のねん性率と発芽率を調査し、花粉形成に及ぼす影響を較べた。さらに形成された花粉を早生温州ミカンに人工交配し、着果率と種子形成能力も調査した。

## III 実験結果

## 1. 花粉およびやくの発育の変化

第1図はねん性品種(日向夏および夏橙)とねん性品種(早生および普通温州ミカン)の開花時の花の形態を示しており、第1表は日向夏と早生温州ミカンの花における各部器官の性質を、開花時に比較したものである。

すなわち、ねん性およびねん性品種の間における大きな差異は、やくの重量と色に顕著にあらわれ、早生温州ミカンは日向夏に比べて雄ずいの重量は約30%、一やく重量は約60%

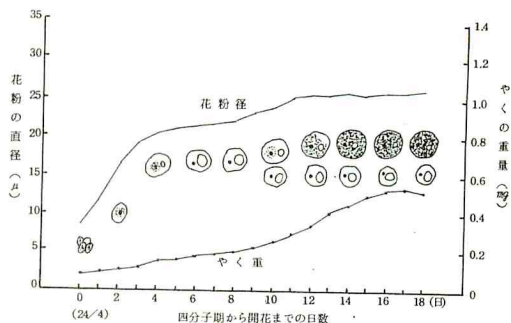
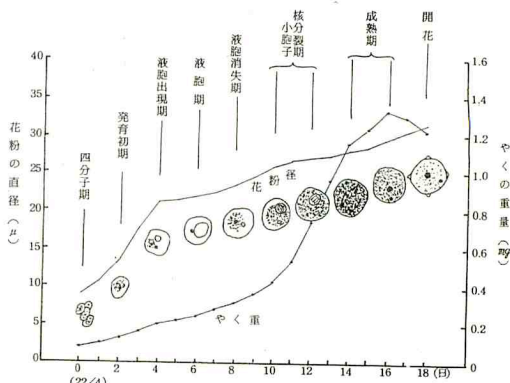


第1図 ねん性種(夏橙, 日向夏)とねん性種(早生温州, 普通温州)における花の形態の比較

ぐらい低くなっており、やくの色も白味をおびていた。なお花粉のねん性率と発芽率の結果よりみて、早生温州ミカンの花粉は、外観的には正常らしき形態を示しているものでも、じつは発芽力のない不能花粉であることを示している。

第2図は花粉とやくの発育ならびに花粉粒中でのでん粉蓄積の様相を示している。日向夏の花粉は花粉母細胞 → 四分分子期 → 発育初期 → 液胞出現期 → 液胞期 → 液胞消失期 → 小胞子核分裂期 → 成熟期 → 開花の発育過程をへる。早生温州ミカンも花粉四分分子期までは一応正常に分裂し、液胞出現期までは日向夏と変わらない発育を示すが、その後発育は緩慢となり、大部分は発育を停止し、一部は崩壊するものもある。また内部的には液胞の消失が不十分で、その後の小胞子の核分裂も異常なものも多く、でん粉の蓄積やでん粉から糖への移行も不完全になり、その結果、空虚花粉や発育不完全の花粉の割合が多くなっている。

一やく重量も日向夏では液胞消失期から小胞子核分裂期にかけて急増し、内容の充実がみられたが、早生温州ミカンではわずかな増加がみ



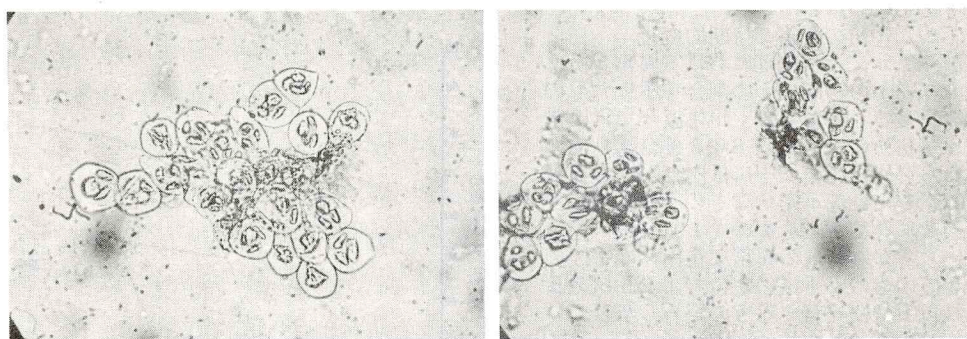
第2図 日向夏および早生温州ミカンにおける花粉粒とやくの発育の時期的変化(上図・日向夏, 下図・宮川早生温州)

られるにすぎなかった。

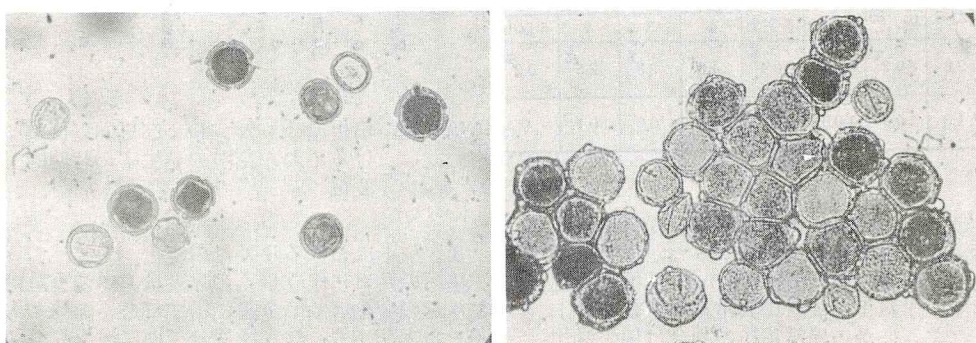
第3図は花粉四分分子期, 第4図は開花時の花粉の状態を示している。また開花時のやくの横断面の状態は第5図に示すごとく、日向夏ではやく壁も正常に発達し、花粉粒も多量に含まれているのに対し、早生温州ではやく壁の細胞層(タペータム)が異常に発達して、やく胞をお

第1表 日向夏および宮川早生温州ミカンの花における形質の比較

	1花重量	雄 ず い		1やく重量	やくの色	雌 ず い		花 粉	
		長さ	重量			長さ	重量	ねん性率	発芽率
日向夏	0.375 <sup>g</sup>	1.15 <sup>cm</sup>	0.071 <sup>g</sup> (145)	1.22 <sup>mg</sup> (235)	濃 黄	0.88 <sup>cm</sup>	0.028 <sup>g</sup>	81.0 <sup>%</sup>	43.5 <sup>%</sup>
早生温州	0.315	1.03	0.049 (100)	0.52 (100)	黄 白	1.00	0.036	19.8	1.40



第3図 花粉四分子期の状態 (左図・日向夏, 右図・早生温州)



第4図 開花時における花粉の状態 (左図・日向夏, 右図・早生温州)



第5図 開花時におけるやくの横断面の状態 (左図・日向夏, 右図・早生温州)

しつぷすような状態になっている。このタペータムの異常も、おそらく花粉の不ねん性と関係があるものと思われる。

2. 不ねん花粉の発達の時期的変化

早生温州ミカンと日向夏における異常花粉（不ねん花粉）の形態とその割合を示したものが第2表である。すなわち、早生温州では異常花粉は正常花粉の4倍強の80.2%含まれており、これらの異常花粉の中には内容が空虚なもの（60.2%）、染色不完全なもの（9.4%）、さらに核数に異常があるもの（10.6%）が含まれていた。なお核数の異常な花粉には1核のもの、3核のもの、4核のものおよび5核あるいはそれ以上の核を有するものがみられた。

第2表 早生温州ミカンおよび日向夏における異常花粉の形態と割合

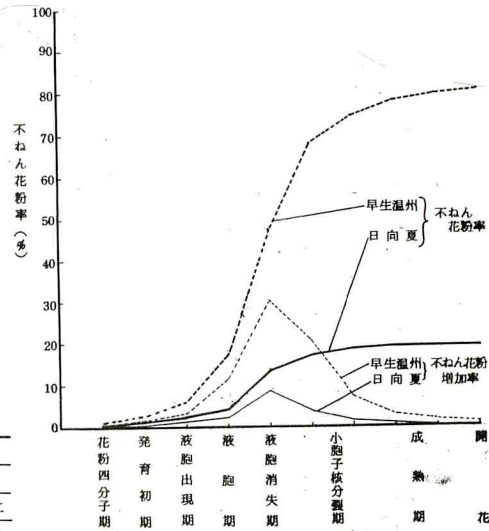
	正 常 花 粉 (2核)	異 常 花 粉	異常花粉の形態					
			空 虚 花 粉	染 色 不 完 全	核の数			
					1	3	4	5以上
早生温州 ミカン	19.8%	80.2%	60.2%	9.4%	4.6%	3.3%	2.5%	0.2%
日向夏	81.0	19.0	10.5	6.7	1.2	0.5	0.1	0

いっぽう、日向夏における異常花粉は正常花粉の1/4以下できわめて低かったが、早生温州と同様、空虚花粉（11.6%）、染色不完全花粉（7.4%）および核数の異常花粉（3.0%）がみられた。しかし異常花粉の割合は早生温州ミカンに比べると顕著に低くなっていた。

一般に開花期における不ねん花粉中には大小のものが混在している。これらの花粉は発達過程において、この大きさに達した後は発育しないものとすれば、その時期がいわゆる異常花粉の発生する時期と考えられる。この考え方にもとづいて、両種における不ねん花粉の発生率の時期的変化を示したのが第6図である。

すなわち、早生温州ミカンの不ねん花粉の発生率（増加率）をみると液胞期ごろより増加し始め、液胞消失期には30.0%となり全生育期を通じて最も高くなったが、小孢子核分裂期から開花期にかけては減少する傾向にあった。

なお日向夏では液胞消失期に8.0%となり、わずかな増加がみられたが、他の時期にはほとんど増加せず、早生温州に比べると極端に低かった。したがって早生温州ミカンにおいては、液胞期から液胞消失期ないしは小孢子核分裂初期までが、花粉の異常を起こす重要な時期と思われる。

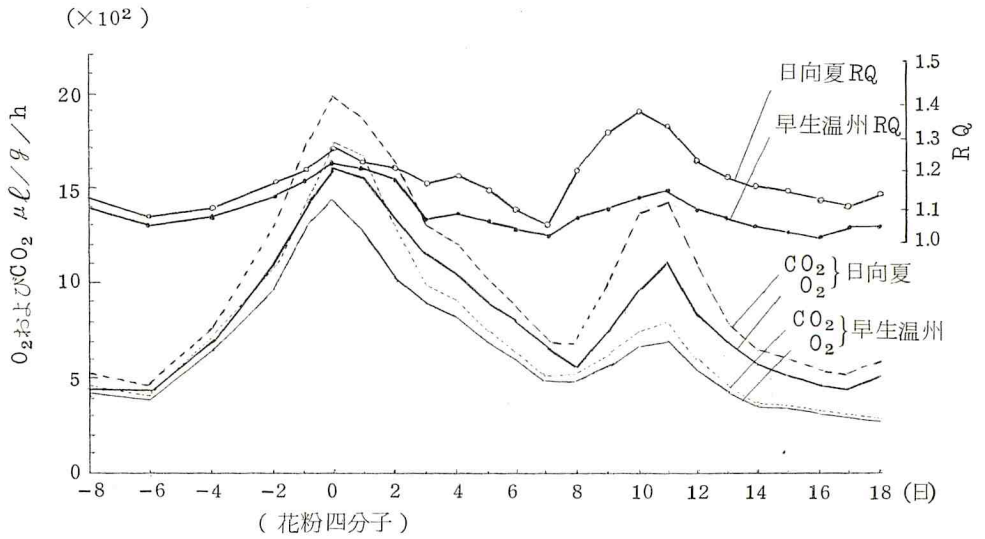


第6図 早生温州ミカンおよび日向夏における不ねん花粉の発生率の時期的変化

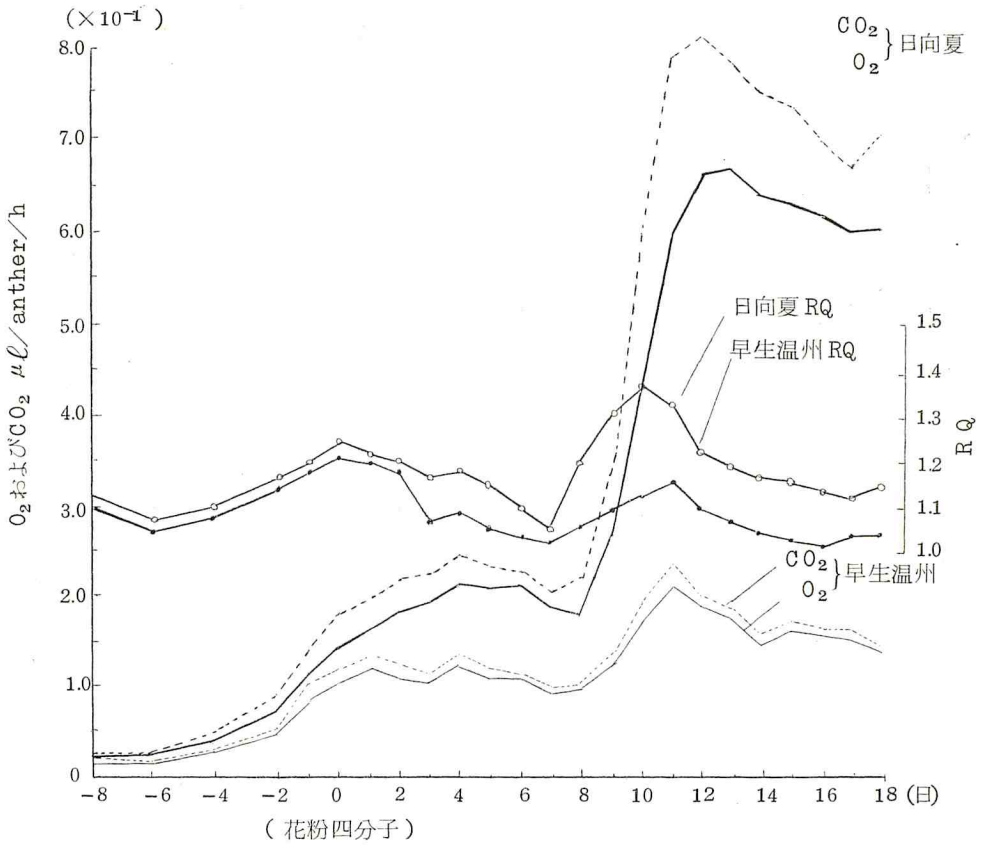
3. やくにおける呼吸量の変化

花粉の発育に伴うやくの呼吸量（単位重量当たり）の変化は、第7図に示すごとく両種ともO<sub>2</sub>およびCO<sub>2</sub>は花粉四分子期に最も高く、ついで小孢子核分裂期が高いが、液胞期と成熟期には低かった。早生温州ミカンの四分子期の呼吸は、RQが日向夏と類似している点からみて日向夏と同様な呼吸代謝を行っていると推察されるが、小孢子核分裂期の呼吸は日向夏より著しく低く、RQも低いことから異なった呼吸代謝と思われる。

第8図は一やく当たりの呼吸量で示した。図からも明らかなごとく、単位重量当たりの結果とは逆に小孢子核分裂期に極端に高く、四分子期にはわずかに増加したにすぎなかった。しかし、両種における呼吸量の差異は液胞期からみられ、液胞消失期から小孢子核分裂期には最も大きかった。このように日向夏と早生温州ミカンの呼吸量における差異のあらわれる時期は、単位重量当たりでも、一やく当たりでも全く同時期であることから、早生温州ミカンでは液胞消失期より小孢子核分裂期における物質代謝の異常が、花粉の退化と関係があるように思われる。



第7図 日向夏および早生温州ミカンのやくにおける呼吸量の変化



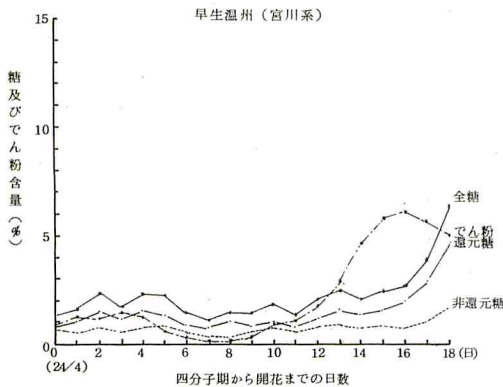
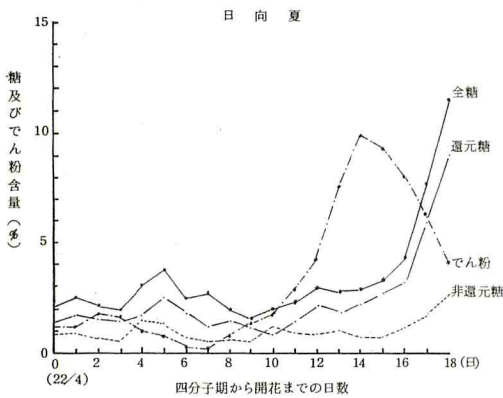
第8図 日向夏および早生温州ミカンにおける一やく当たりの呼吸量の変化

4. やく中の糖およびでん粉含量の変化

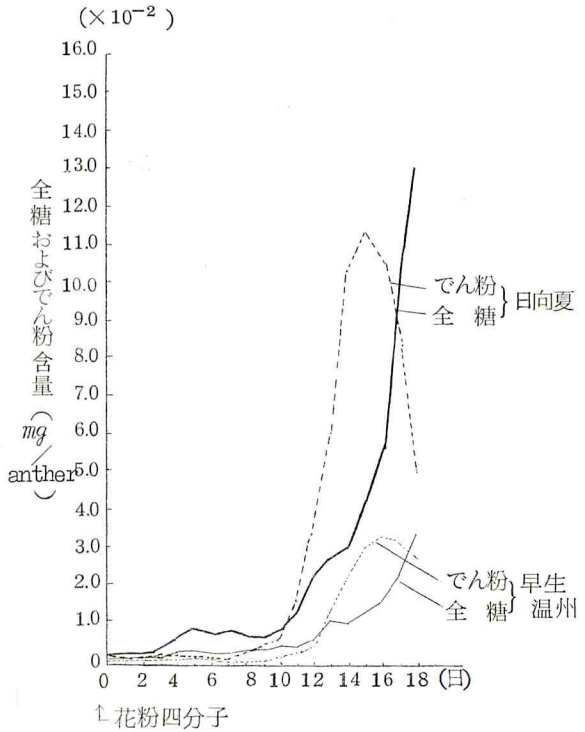
第9図は日向夏および早生温州ミカンのやく中の糖（還元糖、非還元糖および全糖）とでん粉含量の時期的変化を、単位重量当たりで示したものである。すなわち、ねん性種の日向夏では花粉成熟期から開花にかけて還元糖の増加がとくに著しく、非還元糖も若干増加したが、でん粉は小孢子核分裂期より急増し、糖が急激に増加し始める花粉成熟期には漸次減少した。しかし不ねん性種の早生温州では、糖およびでん粉とも顕著な増加はみられず、とくに小孢子核分裂期以後における含量は日向夏に比べて極端に低かった。

また、一やく当たりの全糖およびでん粉含量で示したものが第10図である。日向夏では小孢子核分裂期ごろよりでん粉の顕著な増加がおこり、2～3日おくれで全糖も増加し、早生温州に比べてでん粉は3～6倍、全糖は8倍量高かった。

つぎにやく中の糖の種類とそれらの糖の時期



第9図 やく中の糖およびでん粉含量の変化



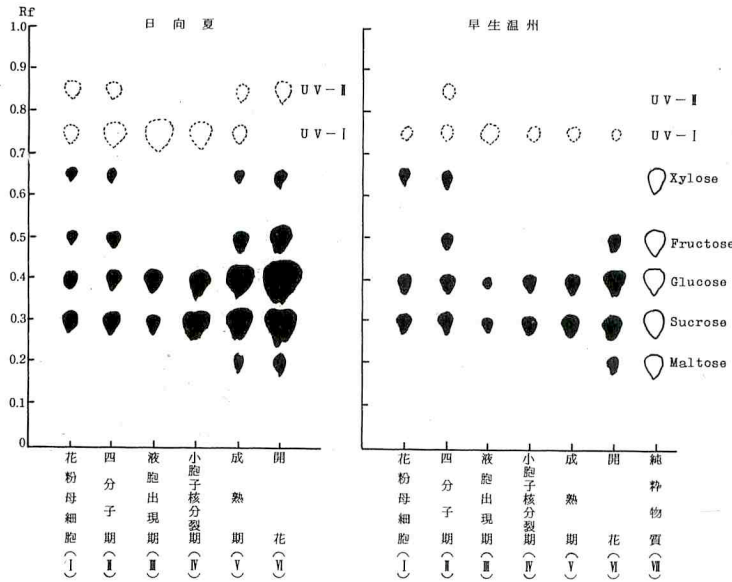
第10図 一やく中の全糖およびでん粉含量の変化

的变化をTLCでさらに詳細に調査したのが第11図である。

やく中にはブドウ糖が最も多く、ついでショ糖、果糖の順に含まれており、麦芽糖も若干存在した。またRf 0.7～0.8およびRf 0.8～0.9の位置に2つの未知の蛍光物質がみられた。

なお、日向夏ではキシロースもわずかに検出された。これらの糖類はいずれも液胞消失期から小孢子核分裂期以後に日向夏では増加したが、早生温州ではさほどの増加はみられなかった。

したがって早生温州ミカンでは、液胞消失期以後にとくにみられるでん粉の合成と分解（糖の合成）反応が、日向夏に比べて円滑に行なわれてないことが推察される。



第11図 各发育期におけるやく中の糖類の変化 (TLCによる)

5. 花粉形成に及ぼす糖類の影響  
 ねん性種の日向夏のやく中に比較的多量に検出されたブドウ糖、果糖、ショ糖、麦芽糖およびキシロースの1.0%、2.5%、5.0%溶液を、

それぞれ花粉四分時期と液胞期の2回、ねん性種の早生温州ミカン(宮川系)の幼花に処理し、花粉形成その他若干の事項について調査した。第3表にはその結果を示している。

第3表 早生温州ミカンの花粉形成に及ぼす糖の影響

処理区	一やくの重量	やくの色	花 粉			結合歩合	一果実の種子数	
			直径	ねん性率	発芽率			
ブドウ糖	1.0%	0.817g	黄色	27.8μ	35.9%	6.87%	28.7%	1.15個
	2.5	0.90	黄色	28.2	39.6	8.30	30.3	1.31
	5.0	0.76	淡黄色	27.0	33.2	5.45	23.5	0.89
平均	0.82(167)		27.7(107)	36.2(191)	6.87(828)	27.5(239)		
果糖	1.0%	0.51	黄白色	26.7	25.3	1.52	15.4	0
	2.5	0.56	黄白色	27.3	28.5	2.06	17.2	0
	5.0	0.48	黄白色	26.2	20.8	1.15	12.5	0
平均	0.52(106)		26.7(103)	24.9(131)	1.58(190)	15.0(130)		
ショ糖	1.0%	0.71	淡黄色	27.5	36.5	5.69	24.9	1.09
	2.5	0.93	黄色	28.6	41.8	9.57	33.6	1.48
	5.0	0.89	黄色	28.4	39.1	8.06	29.1	1.25
平均	0.84(171)		28.2(109)	39.1(206)	7.77(936)	29.2(254)		
麦芽糖	1.0%	0.55	黄白色	26.0	27.7	3.78	18.0	0.45
	2.5	0.69	淡黄色	26.8	32.8	5.52	24.5	0.92
	5.0	0.73	淡黄色	26.5	30.2	5.04	22.1	0.83
平均	0.66(135)		26.4(102)	30.2(159)	4.78(576)	21.5(187)		
キシロース	1.0%	0.52	黄白色	26.1	23.8	2.88	14.6	0
	2.5	0.63	黄白色	26.5	29.7	4.85	20.2	0.37
	5.0	0.58	黄白色	26.4	28.0	3.41	18.7	0.21
平均	0.58(118)		26.3(102)	27.2(143)	3.71(447)	17.8(155)		
無処理	0.49(100)	黄白色	25.8(100)	19.0(100)	0.83(100)	11.5(100)	0	

( )内数字は無処理の値を100とした場合の各区の比数

表からも明らかなごとく、花粉形成にはブドウ糖およびショ糖処理で効果がみられたが、なかでもブドウ糖の1.0および2.5%処理とショ糖の2.5および5.0%処理で効果はすくね、一やく重量も増加し、やくの色も黄色味をおびてねん性種のやくにやや近い状態を呈し、花粉のねん性率および発芽率も高くなった。

これらの形成された花粉の人工交配による着果率と種子形成力を見ると、ショ糖とブドウ糖処理ですくね、麦芽糖処理がこれにつぎ、キシロースおよび果糖処理の花粉では効果はなかった。

6. やく中の酵素活性の変化

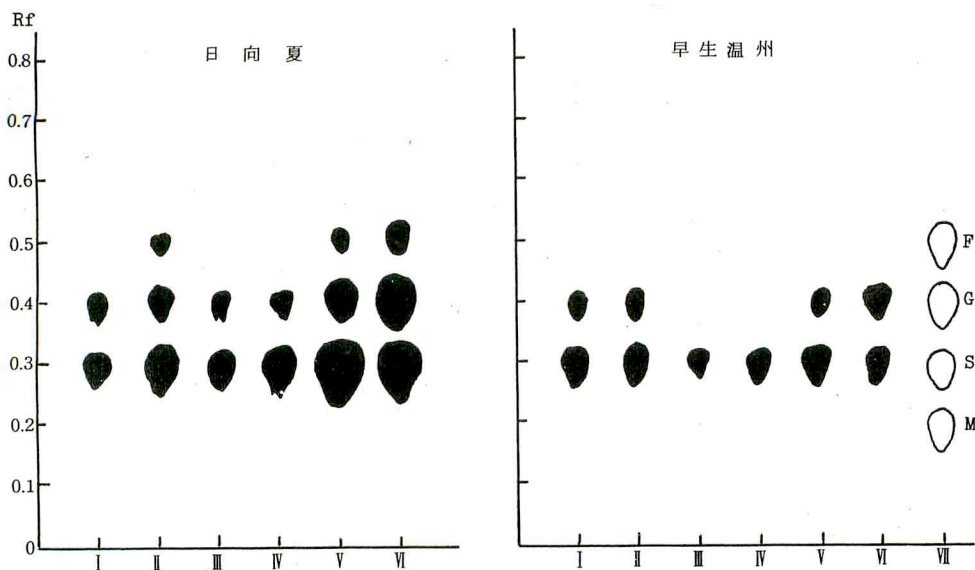
第12図はアミラーゼ活性の変化を示しているが、日向夏では花粉成熟期に最も高く、液胞期には逆に最も低い傾向にあった。早生温州では液胞期前の活性は日向夏と大差はないが、この時期以後の活性はほとんど変化はみられず、日向夏に比べて極端に低かった。

また、日向夏のインペルターゼの活性は第13

図に示すごとく、アミラーゼの活性の消長とよく似た傾向を示し、その活性のピークはアミラーゼの活性より2~3日おくれであらわれている。早生温州では、アミラーゼの活性と同様、液胞期以後の活性は顕著に低かった。

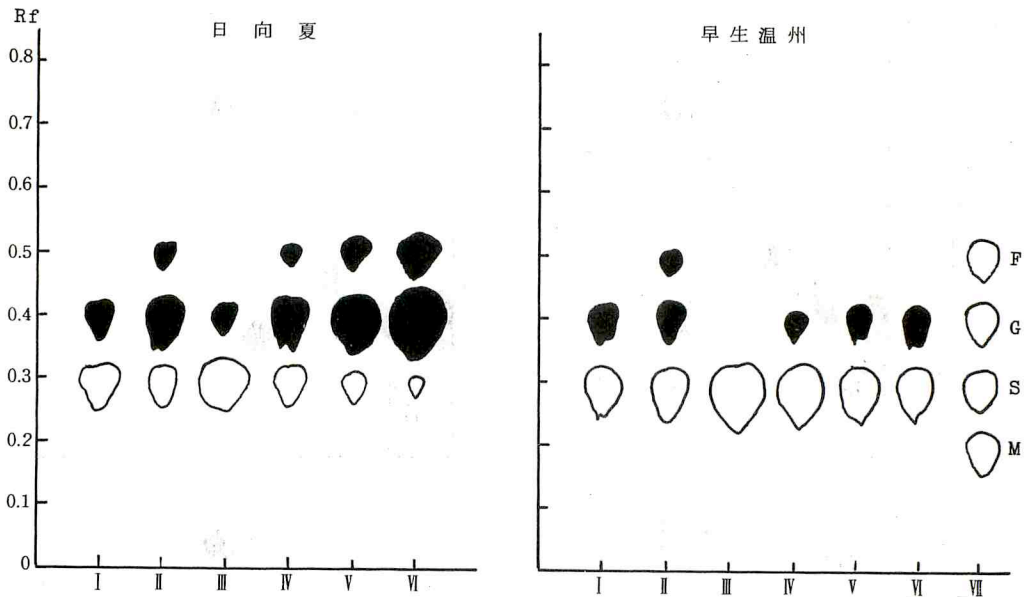
第14図はフォスフォリラーゼの活性について示している。すなわち日向夏では小孢子核分裂期が最も高く、発育初期もいくぶん高かったが、液胞期には最低になった。いっぽう早生温州でも発育初期は高いが、小孢子核分裂期以後の活性は日向夏に比べて著しく低かった。

このように不ねん性の早生温州ミカンでは、生活に必要なエネルギー源を得るために重要な役割を演じている酵素、すなわちアミラーゼ、インペルターゼおよびフォスフォリラーゼの活性に異常がみられる時期（液胞期から液胞消失期）が、花粉退化の起こる時期と一致している。したがってこれらの酵素の活性の低下も糖代謝に影響するので、早生温州ミカンにおける雄性不ねんの一因と考えられる。

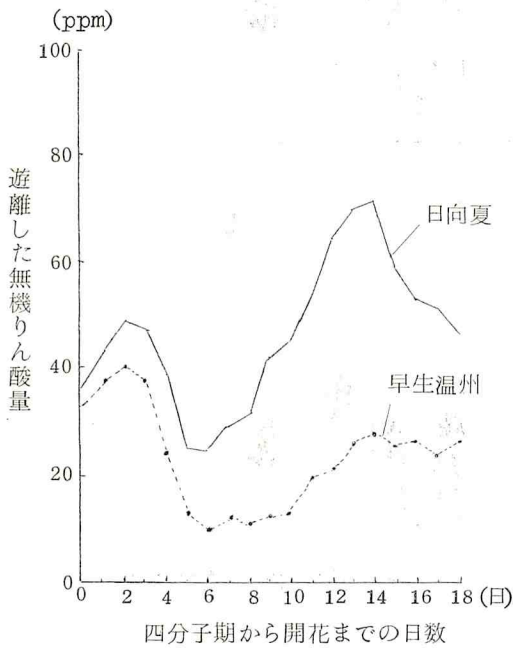


第12図 各発育期のやく中におけるアミラーゼの活性の変化





第13図 各発育期のやく中におけるインベルターゼの活性の変化



第14図 やく中におけるフォスフォリラーゼの活性の変化

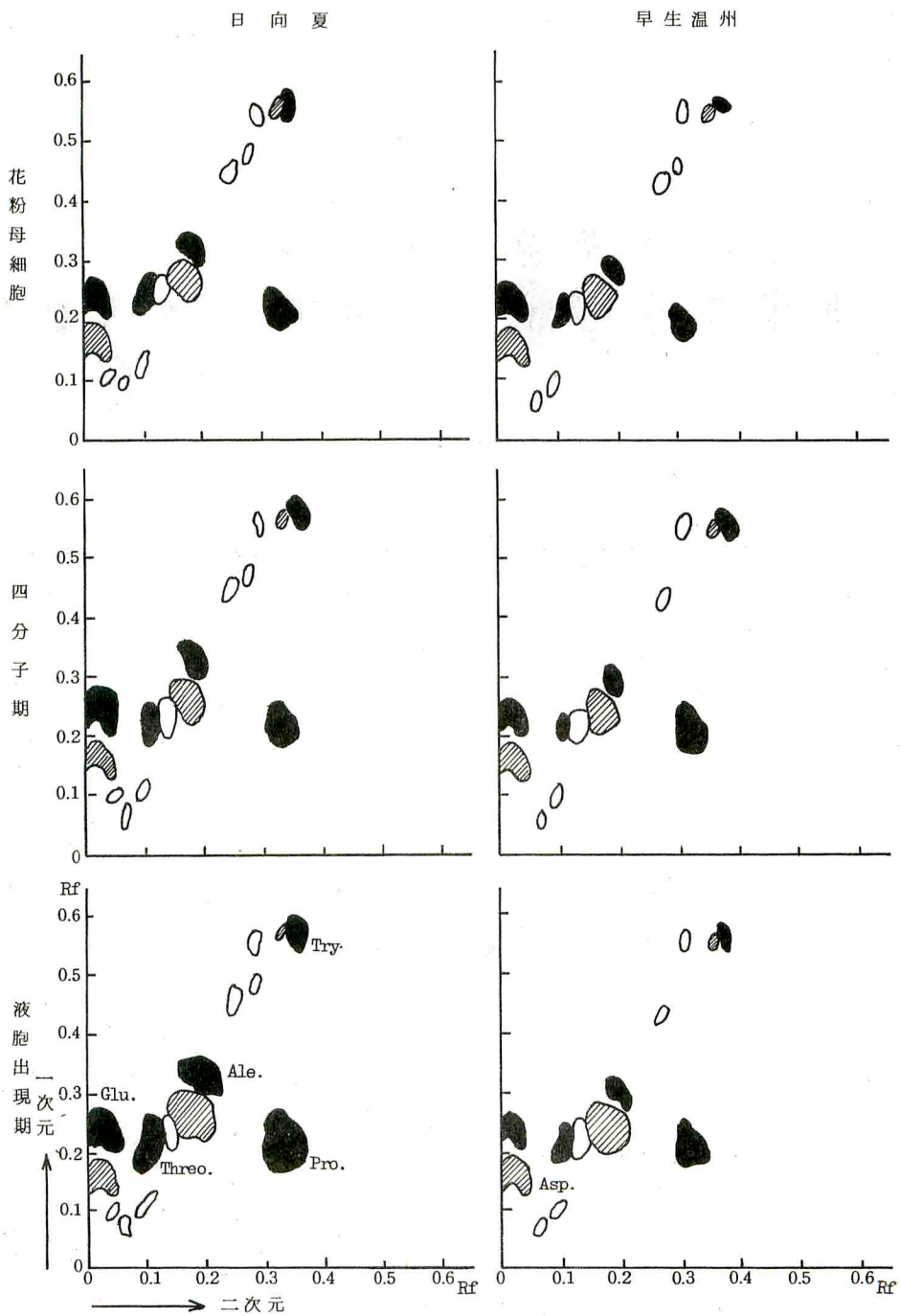
7. やく中のアミノ酸の変化

花粉の発育に伴うやく中のアミノ酸の時期的変化をTLCによって示したものが第15図である。

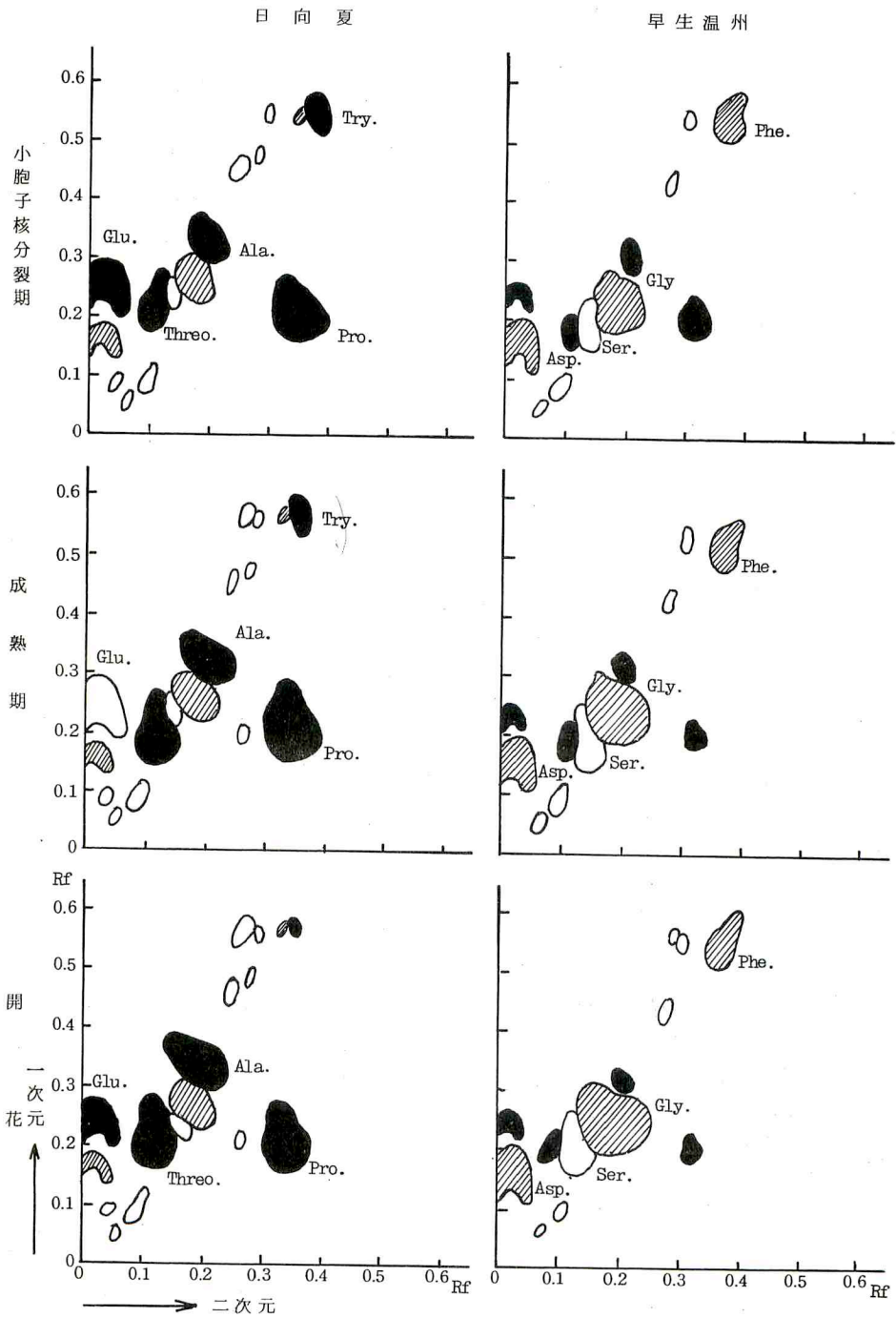
やく中にはアラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、セリン、スレオニン、プロリン、フェニールアラニン、トリプトファン、ヒドロプロリン、チロシン、アルギニン、ロイシン、バリン、リシン、メチオニンなど18種のアミノ酸が検出された。これらのアミノ酸はねん性および不ねん性によって、また同一品種でも花粉の発育時期によって変化がみられた。

第4表は上述のTLCの結果をもとにして、各発育時期でのねん性種(日向夏)と不ねん性種(早生温州ミカン)のやく中におけるアミノ酸の変動を、わかりやすく表示したものである。

すなわち第15図および第4表から明らかなごとく、日向夏と早生温州ミカンでは、花粉母細胞から花粉四分子期にかけては大差はみられないが、液胞出現期ごろより両種の間で差異がみられ、とくに小孢子核分裂期から開花期には顕著となり、日向夏ではプロリン、グルタミン、グルタミン酸、スレオニン、アラニンおよびトリプトファンが、早生温州ミカンではアスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリンおよびフェニールアラニンがとくに多量に見いだされた。



第15図 各発育期におけるやく中のア  
 Ala : アラニン Asp : アスパラギン  
 Ser : セリン Threo : スレオニン



ミノ酸の変化 (TLCによる)

Glu: グルタミン Gly: グリシン Pro: プロリン

Try: トリプトファン Phe: フェニルアラニン

第4表 ねん性および不ねん性種の各発育期におけるやく中のアミノ酸の比較

アミノ酸	品 種	花粉母 細 胞	四分子期	液 胞 出 現 期	小 胞 子 核分裂期	成 熟 期	開 花
アラニン	日向夏	—	—	(F)	<u>F</u>	<u>F</u>	<u>F</u>
	早生温州	—	—	—	—	—	—
アスパラギン酸	日向夏	—	—	—	—	—	—
	早生温州	—	—	—	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
グルタミン酸	日向夏	—	—	(F)	<u>F</u>	<u>F</u>	<u>F</u>
	早生温州	—	—	—	—	—	—
グリシン	日向夏	—	—	—	—	—	—
	早生温州	—	—	—	(S)	<u>S</u>	<u>S</u>
フェニールアラニン	日向夏	—	—	—	—	—	—
	早生温州	—	—	—	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
プロリン	日向夏	—	—	(F)	<u>F</u>	<u>F</u>	<u>F</u>
	早生温州	—	—	—	—	—	—
セリン	日向夏	—	—	—	—	—	—
	早生温州	—	—	—	(S)	<u>S</u>	<u>S</u>
スレオニン	日向夏	—	—	—	(F)	<u>F</u>	<u>F</u>
	早生温州	—	—	—	—	—	—
トリプトファン	日向夏	—	—	(F)	<u>F</u>	<u>F</u>	—
	早生温州	—	—	—	—	—	—

(F) = ねん性種で高い。 F = ねん性種で顕著に高い。 (S) = 不ねん性種で高い。  
 S = 不ねん性種で顕著に高い。 — = ねん性種と不ねん性種の間で差異なし。

8. 花粉形成に及ぼすアミノ酸の影響

つぎにねん性種の日向夏に多量にみられたプロリン、グルタミン酸、アラニン、スレオニンおよびトリプトファンの 10ppm, 100ppm, 1000ppm 溶液をそれぞれ花粉四分子期と液胞期に2回、早生温州ミカン(宮川系)の花に処理し、花粉形成その他2, 3の事項について調査した。その結果は第5表に示している。

すなわち、花粉形成にはグルタミン酸とプロリン処理で効果がみられ、とくに10および

100ppm 処理では一やく重量も増加し、やくの色も黄色をおびて日向夏にやや近い状態を呈し、花粉のねん性率および発芽率も高かった。また、これらの形成された花粉の人工交配による着果率と種子形成力をみると、グルタミン酸とプロリンの10~100ppm 処理ですくれていた。なおアラニンおよびトリプトファンの100ppm 処理でも、いくぶん効果がみられたが、スレオニンの処理では効果はなかった。

第5表 早生温州ミカンの花粉形成に及ぼすアミノ酸の影響

処理区	1やくの重量	やくの色	花 粉			結実歩合	1果実の種子数	
			直径	ねん性率	発芽率			
アラニン	10ppm	0.61mg	淡黄色	26.6μ	27.7%	5.29%	19.8%	0.28個
	100	0.67	淡黄色	27.1	31.0	7.11	23.7	0.51
	1000	0.58	黄白色	26.1	22.8	3.44	16.5	0
平均	0.62(127)			26.6(103)	27.2(143)	5.28(636)	20.0(174)	
グルタミン酸	10ppm	0.79	黄色	27.3	39.1	15.06	43.5	1.71
	100	0.88	黄色	28.1	44.8	17.17	49.2	1.93
	1000	0.61	淡黄色	26.3	29.8	9.18	32.4	0.89
平均	0.76(155)			27.2(106)	37.9(199)	13.80(1663)	41.7(363)	
プロリン	10ppm	0.81	黄色	27.1	40.3	13.24	39.8	1.42
	100	0.85	黄色	27.6	41.8	15.87	44.3	1.57
	1000	0.67	淡黄色	26.6	31.4	8.37	30.6	0.68
平均	0.78(159)			27.1(105)	37.8(199)	12.50(1506)	38.2(332)	
トリプトファン	10ppm	0.65	淡黄色	26.1	29.1	7.52	21.6	0.67
	100	0.71	淡黄色	26.7	33.4	8.87	28.3	0.86
	1000	0.56	黄白色	25.8	23.2	3.74	19.8	0.31
平均	0.64(131)			26.2(102)	28.6(150)	6.71(809)	23.2(202)	
スレオニン	10ppm	0.54	黄白色	25.5	21.4	1.44	12.3	0
	100	0.59	黄白色	26.3	24.2	2.65	15.6	0
	1000	0.51	黄白色	25.0	19.9	0.86	10.8	0
平均	0.55(112)			25.6(99)	21.8(115)	1.65(199)	12.9(112)	
無処理	0.49 (100)	黄白色	25.8 (100)	19.0 (100)	0.83 (100)	11.5 (100)	0	

( )内数字は無処理の値を100とした場合の各区の比数

#### IV 考 察

植物における花粉ねんの原因としては、交雑あるいは突然変異からくる遺伝的な原因や、花粉の発育にとって不都合な外的および内的条件にもとづく生理的な原因など、いろいろな場合があることが考えられる。すなわち、

- 1) 減数分裂時の染色体の異常行動による場合。
  - 2) 減数分裂時の染色体の異常行動以外の遺伝的特性による場合。
  - 3) 植物体の栄養状態による場合。
  - 4) 花粉の発育期間における温度(高温および低温)による場合。
  - 5) 病気(バイラスその他の病気)による場合。
  - 6) 遺伝因子による場合。
- などである。

わが国で栽培されているかんきつ類の中で、無能花粉をもつおもなものは、温州ミカン(早生および普通温州)とネーブルオレンジ(ワシ

ントンネーブルおよびトムソンネーブル)であるが、これらのかんきつ類では、なぜ花粉が退化するのか、その原因についてはなお不明な点が多い。

本研究は温州ミカンにおける花粉退化の機構を細胞、組織ならびに生理学的に解明するために、ねん性種の宮川早生温州ミカンとねん性種の日向夏を用い、花粉の退化過程を比較追跡したものである。

早生温州ミカンでは日向夏に比べて雄性ねんの傾向が強くみられ、その傾向は他の雄性ねん植物(12)(6)で報告されているごとく、やくの重量と色調にみられている。

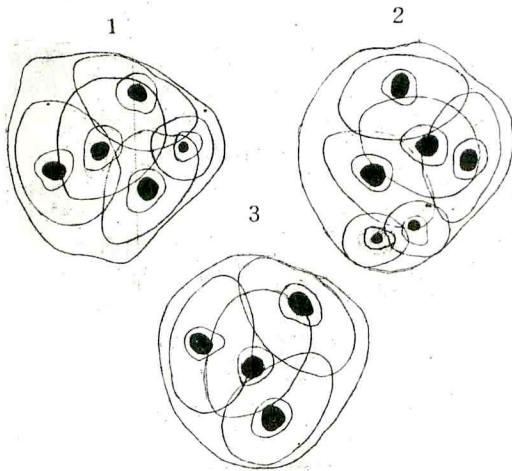
この早生温州ミカンの花粉ねん性をみると、本実験の結果では19.8%で日向夏の81.0%に比べてきわめて低く、しかもねん性花粉と思われたものでも、ほとんど発芽力のない花粉であることが発芽試験の結果より分明的な。したがって早生温州ミカンでは、大部分の花粉はねん花粉であるといえる。

つぎに、これらの花粉の退化する時期を明ら

かにするために、まず四分子期の異常小胞子（第16図）を調査したところ、その異常率は第6表のごとくわずかに4.6%で、日向夏の3.4%と大差はみられなかったから、花粉四分子期までの退化はわずかであろうと考えられる。したがって花粉の退化する時期は、四分子期以後成熟花粉粒に発達するまでの間にあるといえる。

そこで花粉四分子期から開花までの異常花粉の発生状況を調べたところ、液胞期から液胞消失期ないし小胞子核分裂期で多くなっており、とくに液胞消失期では30%以上の発生率を示し、花粉の異常を起す重要な時期と思われた。

花粉の発達過程において液胞を生ずることは、かんきつにおける特徴的な現象である。この液胞の生ずる原因について中村<sup>(11)</sup>は、花粉母細胞の膜が破れて外に出た小胞子が急に容積を増



第16図 早生温州ミカンにおける花粉四分子の状態 (×2000)  
1 および 2, 異常四分子  
3, 正常四分子

第6表 早生温州ミカンと日向夏における異常小胞子の形成率 (花粉四分子期)

	正常		異常		異常小胞子数				
	数	割合	数	割合	2	3	5	6	7以上
早生温州ミカン	477	95.4%	23	4.6%	0.2%	0.4%	3.0%	0.8%	0.2%
日向夏	483	96.6	17	3.4	0	0.2	2.6	0.6	0

観察数：500個

大するために内容がこれに伴わず、花粉内に大きな空胞を生ずるとしている。たしかに発育初期の花粉は、しばらくの間は栄養と発育の間のバランスがとれているけれども、発育があまり早すぎるので、のちには栄養がそれに伴わなくなり、ついには飢餓の状態に近づくようである。このために花粉の内容は希薄となって液胞がそれに入れかわって花粉内に生じてくるのだろう。しかし、この液胞も栄養が供給されるようになると回復されるので、この液胞期はいわば栄養的にみて蓄積よりも消費の時期といえよう。このような時期では内容物をすっかり使いはたして非常に抵抗力が弱まっているために、少しの悪条件でも影響され、花粉は死滅したりあるいは異常になったりするのだろう。

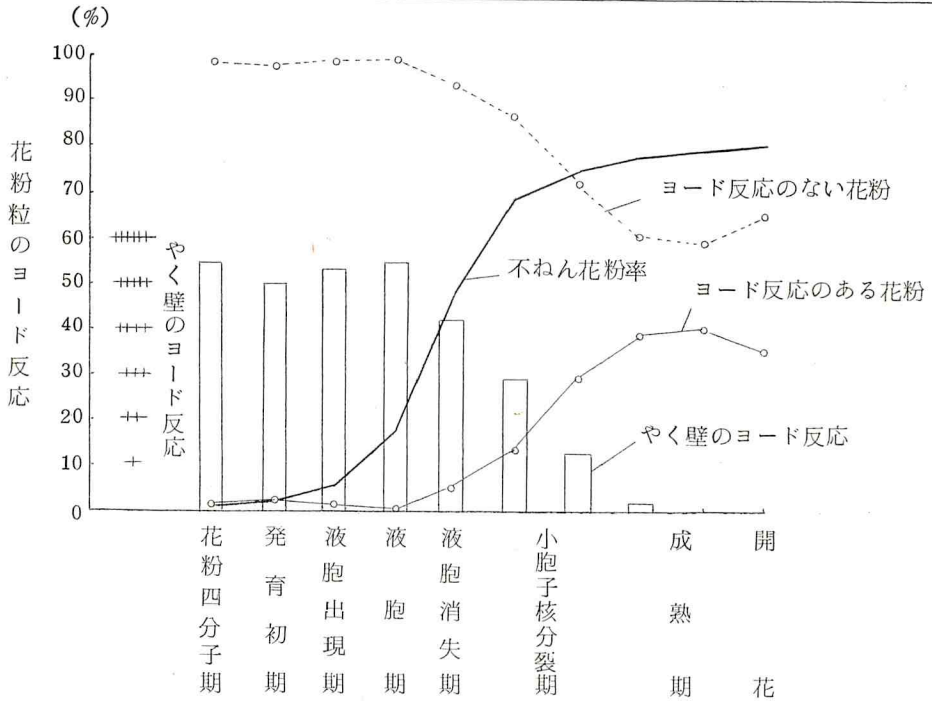
花粉の栄養に関係あるものとして、やく壁のタペト細胞が考えられるので、一つの手がかりをつかむために早生温州と日向夏について、花粉とやく壁のヨード反応の時期的変化を調べてみたが（第17図と第18図）、やく壁のヨード反応は花粉発達の初期には濃くそまるが、液胞消失期より著しくうすくなり、その後まったく反応はなくなる。いっぽう花粉内では、やく壁のヨード反応が急激に低下する液胞消失期ごろより、でん粉の蓄積が著しく増加するのがみられている。ただ、早生温州ミカンは日向夏に比べてやく壁のヨード反応の低下する度合が小さいので、おそい時期（成熟期）まででん粉が認められており、反応に花粉内へのでん粉の蓄積は日向夏より著しく少なく、不ねん花粉率は顕著に高くなっていた。このことは、やく壁が初期の小胞子の発達に必要な栄養の給源であることを示しているように思われる。早生温州では花粉四分子直後より、やく壁のタペト細胞の発育が異常となるために、養分供給の通路としての働きを失ない、小胞子の発育にも影響を与えるのだろう。

以上より考察して早生温州ミカンの不ねん花粉のおもな退化時期は、液胞期から液胞消失期にあり、それはタペト細胞の異常にもとづく小胞子への養分供給の不足と、小胞子の吸収不能に原因すると考えられる。

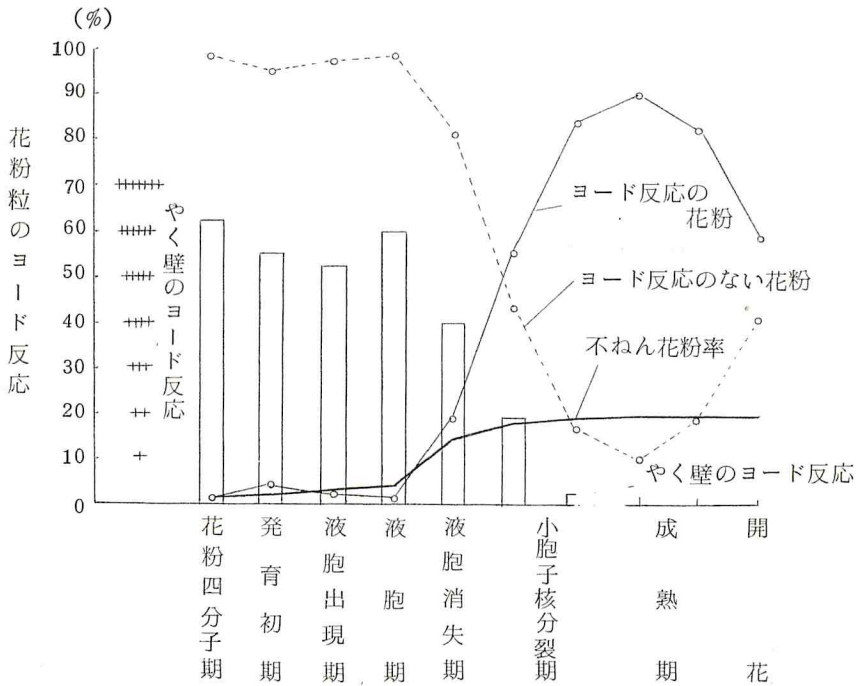
このように細胞、組織学的には液胞期が花粉退化に重要な時期であることが確かめられたので、さらに生理学には如何なる変化が起こっているかを若干追究してみた。

生体内の代謝活性をよくあらわすものとして、まず呼吸量があげられるが、不ねん性種（早生温州）とねん性種（日向夏）における呼吸量の差異は液胞期からみられ、とくに異常花粉の発生の著しくなる液胞消失期から小胞子核分裂期に最も大きくなり、明らかに早生温州で呼吸の度合が顕著に低下している。したがって液胞期以後の物質代謝の異常が花粉退化と密接な関係にあるように思われる。

つぎに呼吸基質として花粉の分化、発達のエ



第17図 早生温州ミカンの花粉粒とやく壁におけるヨード反応の时期的変化



第18図 日向夏の花 pollen およびやく壁におけるヨード反応の时期的変化

エネルギー源となる糖類は、その消長からも花粉の退化と密接な関係にあることがうかがわれ、糖の増加は明らかに花粉のねん性を著しく高めることを示している。すなわち異常花粉の発生が著しくなる液胞消失期ごろより、日向夏ではでん粉の蓄積がさかに行なわれ、さらにショ糖あるいはブドウ糖や果糖に分解されて、花粉の量的または質的生長のために利用されているのに反し、早生温州では液胞期以後のでん粉の蓄積はわずかで、糖への移行もほとんどみられなかった。

本試験でも、ブドウ糖やショ糖を早生温州の花粉四分子期および液胞期の幼花へ二回与えると、花粉ねん性もかなり高められている。また、ナンシ(5)やブドウ(10)を秋期摘葉し、樹体内の貯蔵養分量(糖含量)を低下させると、翌年不ねん花粉が著しく増加したという報告もある。

このように、でん粉や糖含量と花粉退化とは関連性がみられるので、当然やく組織中の糖化酵素の活性にも関係があるのではないかと考えて、アミラーゼ、インベルターゼおよびフォスフォリラーゼの活性を調べたところ、液胞消失期をさかいとして日向夏で著しく高く、早生温州できわめて低かった。この傾向は不ねん性のモモ(6)のやく組織中でも認められている。

以上の結果からもわかるように、不ねん性の早生温州ミカンでは、生活に必要なエネルギーを得るために重要な役割を演じているアミラーゼ、インベルターゼおよびフォスフォリラーゼの活性に異常がみられる時期(液胞期から液胞消失期)が、花粉退化の起こる時期と一致している。したがって、これらの酵素の活性の低下も糖代謝に影響を及ぼすので、花粉退化の一因と考えられる。

また遊離アミノ酸と花粉ねん性との関係についてみると、液胞出現期までの不ねん性種(早生温州ミカン)のやく中のアミノ酸組成は、同時期のねん性種(日向夏)のやく中のそれと大差はなかったが、花粉の退化が始まる時期(液胞期ないし液胞消失期)より日向夏ではプロリン、グルタミン、グルタミン酸、アラニン、スレオニンおよびトリプトファンが、早生温州ミカンではアスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリンおよびフェニールアラニンが多量に検出された。

そこで日向夏に多量に検出された数種のアミノ酸を、前述の糖と同じ時期に早生温州の幼花に処理すると、プロリンおよびグルタミン酸処理で、発芽力のある健全花粉をかなり形成させることが出来た。このことから、とくにプロリンやグルタミン酸は花粉のねん性と関係があることが推察されよう。

不ねんやくより正常やくにプロリンが多いことは FUKASAWA(3)、深沢・三藤(4)、細川・津田・武田(7)、KHOO・STINSON(9)、片山(8)、尾崎・田井(13)、尾崎・田井・五島(14)、藤下(12)および

平田ら(6)が、グルタミン酸が多いことは BROOKS(2)および平田ら(6)が、アラニンが多いことは KHOO・STINSON(9)、BROOKS(1) および細川(7)がそれぞれ認めている。

しかしながら、やく組織中でのアミノ酸のはたす役割や代謝については不明な点が多く、花粉の発芽や発育とちっ素代謝との関係を追究する必要がある。

本研究に供試した雌性不ねんの早生温州ミカンでは、花粉退化の主要な原因がタペート細胞の分化や消化過程の異常にあり、花粉粒への栄養分(糖、アミノ酸および他の物質)の供給の低下が、不ねん花粉を増加させるように推察される。

じじつ、ある種の糖やアミノ酸を与えることにより、花粉ねん性を高めえたことは、花粉退化の機構を解明するのに一つの手がかりをえたようにも思われるが、なお核酸、蛋白質、酵素およびホルモンなどの面からも追究し、総合的な見地から考察する必要がある。

## V 摘 要

温州ミカンの花粉退化の機構を明らかにする目的で、1963年より3年間、不ねん性種の早生温州ミカン(宮川系)とねん性種の日向夏を供試し、花粉母細胞より開花にいたるまで細胞、組織ならびに生理学的変化を追究し、比較検討を行なった。

1. 開花時における花の形質を比較すると、一やく重量とやくの色に著しい差異がみられ、早生温州は日向夏に比べて一やく重量は約60%減で、やくの色も白味をおび、花粉のねん性率や発芽率も顕著に低かった。

2. 早生温州ミカンにおいては、四分子期まではほとんど花粉の退化は起こらず、液胞期ないしは液胞消失期にいたり著しい退化がみられたが、この時期が花粉の異常をひき起こす重要な時期と思われた。

3. 早生温州ミカンの花粉ねん性率は19.8%で、不ねん花粉率は約4倍の80.2%をしめていた。これらの不ねん花粉の中には空虚花粉、染色不完全花粉および核数の異常な花粉などが含まれていた。

4. 不ねん性の早生温州ミカンでは、花粉四分子直後よりやく壁のタペート細胞は発育が異常となるため、養分供給の通路としての働きを失ない、小胞子の発育にも影響を与えるものと思われる。

5. やく組織の呼吸量の差異は、不ねん花粉の発生が多くなる液胞消失期から著しくなり、早生温州では極端に低下され、呼吸率も小さくなった。この時期の物質代謝の異常が早生温州の花粉退化と関係があるように思われる。

6. 両種のやく中にはブドウ糖が最も多く、ついでショ糖、果糖の順に含まれていたが、そ



のほかに麦芽糖やキシロースもわずかに認められ、また未知の蛍光物質も二種検出された。

なお日向夏では液胞消失期よりブドウ糖、シロ糖の増加が顕著であったが、早生温州での増加はわずかであった。

7. 日向夏のやく中におけるでん粉含量は、液胞期より成熟期にかけて急増し、開花期には減少したが、全糖は液胞消失期より開花期まで増加した。しかし、早生温州では日向夏ほど著しい変化はみられなかった。

8. やく組織中のアミラーゼ、インベルターゼおよびフォスフォリラーゼの活性を調べたところ、日向夏ではアミラーゼおよびフォスフォリラーゼは液胞消失期より、インベルターゼは小孢子核分裂期よりいずれも高くなったが、早生温州ミカンでは日向夏に比べて、ほとんど活性における変化はみられなかった。

9. やく中には、約18種の遊離アミノ酸が検出された。これらの遊離アミノ酸の組成は、

花粉の発育段階に応じて変化するが、とくに不ねん花粉の発生が多くなる液胞期ごろより、ねん性種の日向夏ではプロリン、グルタミン、グルタミン酸、スレオニン、アラニンおよびトリプトファンが、不ねん性種の早生温州ミカンではアスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリンおよびフェニールアラニンが多量に見いだされた。

10. 早生温州ミカンの花粉四分子期および液胞期の幼花に、ブドウ糖(1.0~2.5%)、シロ糖(2.5~5.0%)あるいはプロリン(10~100 ppm)、グルタミン酸(10~100 ppm)を単用で二回処理すると、発芽力のある健全花粉が若干形成された。

11. 早生温州ミカンにおける花粉退化の原因は、タペート細胞層の分化や消化過程の異常にあり、ひいては小孢子への養分供給の不足と小孢子的吸収不能にあると考えられる。

## 引用文献

1. BROOKS, M. H. 1960. A study of the mode of gene action in cytoplasmic male sterility: Semiquantitative analyses of the free amino acids in anthers of fertile and cytoplasmic male sterile. *Genetics*, 45 : 978.
2. BROOKS, M. H. 1962. Comparative analyses of some of the free amino acids in anthers of fertile and genetic cytoplasmic male sterile Sorghum. *Genetics*, 47 : 1629-1638.
3. FUKASAWA, H. 1954. On the free amino acids in anthers of male sterile wheat and maize. *Jap. J. Genet.*, 29 : 135-137.
4. 深沢広祐・三藤勝弘. 1956. 異質細胞質による雄性不ねんコムギのアスパラギンとプロリン. *科学*, 26 : 313-314.
5. 林真二・脇坂幸雄. 1956. 二十世紀ナシの貯蔵養分ならびに養分転換期. *農業および園芸*, 31 : 333-335.
6. 平田尚美・黒岡浩・中川昌一. 1966. モモ花粉の退化機構に関する研究(第1報). 花粉の発育の組織学的観察および、花粉の発育とやく中の糖、アミノ酸および酵素の活性との関連について. *園芸学会秋季大会研究発表要旨*, p. 1.
7. 細川定治・津田用弥・武田竹雄. 1963. てん菜の雄性不ねん現象に関する組織化学的研究. *育学雑*, 13 : 117-124.
8. 片山平. 1961. 水稻の不ねん性と遊離アミノ酸、特にプロリンとの関係. *育学雑*, 11 : 291-294.
9. KHOO, U. and H. T. TR. STINSON. 1957. Free amino acid

differences between cytoplasmic male sterile and normal fertile anthers. Proc. Nat. Acad. Sci. 43 : 603-607.

10. 中川昌一。 1962. ブドウの受精の生理と果実の発育ならびに成熟。 農耕と園芸編, ブドウ栽培の新技术, p.104-111.
11. 中村三八夫。 1934. かんきつ属の細胞学的研究 II. 染色体数, 花粉の不ねんおよび異常四分子形成。 柑橘研究, 6 : 162-178.
12. 藤下典之。 1963. 低温による花粉退化と葯組織に含まれる遊離アミノ酸との関係。 園芸学会秋季大会研究発表要旨, p.20.
13. 尾崎清・田井喜三男。 1957. 不ねんの生化学的研究, (1). 花粉中のProline について。 日土肥学会講演要旨, 第3集 : 40.
14. 尾崎清・田井喜三男・五島皓。 1962. 植物の花粉中の遊離アミノ酸について。 農業および園芸, 37 : 1340.